

(51) Int.Cl.⁵

識別記号

F I

G 0 1 N 35/00

G 0 1 N 35/00

D

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 55 頁)

(21) 出願番号 特願平8-509581
 (86) (22) 出願日 平成7年(1995)8月31日
 (85) 補正文提出日 平成9年(1997)3月3日
 (86) 国際出願番号 P C T / U S 9 5 / 1 1 0 7 3
 (87) 国際公開番号 W O 9 6 / 0 7 9 1 9
 (87) 国際公開日 平成8年(1996)3月14日
 (31) 優先権主張番号 0 8 / 3 0 0 , 3 6 0
 (32) 優先日 1994年9月2日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

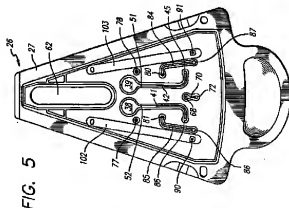
(71) 出願人 バイオメトリック イメージング インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州
 94043-1829 マウンテン ヴィュー テ
 ラ ベラ アベニュー 1025
 (72) 発明者 シャートル ロバート ジェイ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州
 94550 リヴァーモア マドローン ウェ
 イ 982
 (74) 代理人 弁理士 中村 稔 (外6名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生物学的サンプルの検定のための使い捨てカートリッジおよび検定方法

(57) 【要約】

生物学的サンプルを、画像化器具による分析に提示するためのカートリッジ。本発明のカートリッジは、毛細管、重力および低速心力の全体の機能として、カートリッジを通して試薬および希釈剤を移動させる、一連のキャピラリー (41 および 42)、容器 (38 および 39)、および停止ジャンクション (51 および 52) を具備している。



【特許請求の範囲】**1. 低遠心加速において液体を流れさせる流体力学回路であって：**

入口と、該入口から外側の半径方向位置を有する出口とを含む、液体を供給するための半径方向高さ手段であって、更に、該手段の出口を通して液体が流れるのを禁止するように構成された液体流路を含む半径方向高さ手段と；

前記半径方向の高さ手段の出口と共に鋭い移行部分を与え、かつ前記高さ手段の出口と液体流通している収容手段とを具備し、

前記半径方向高さ手段の入口および出口の半径方向位置は、前記半径方向高さ手段に低い遠心加速が適用されたときに、前記出口を通して液体が流れるように選択される流体力学回路。

2. 低遠心加速において液体を流れさせる流体力学回路であって：

入口と、該入口から外側の半径方向位置を有する出口とを含む、液体を供給するための半径方向高さ手段であって、更に、該手段の出口を通して液体が流れるのを禁止するように構成された液体流路を含む半径方向高さ手段と；

前記半径方向高さ手段と液体流通した流れ停止キャピラリーであって、更に、出口と、該出口を通過する液体の流れを禁止するように構成された通路とを含む流れ停止キャピラリーと；

前記半径方向の高さ手段の出口と共に鋭い移行部分を与え、かつ前記高さ手段の出口と液体流通している収容手段とを具備し、

前記半径方向高さ手段の入口および出口の半径方向位置は、前記半径方向高さ手段および前記流れ停止キャピラリーに低い遠心加速が適用されたときに、前記流れ停止キャピラリーを通して液体が流れるように選択される流体力学回路。

3. 請求項2に記載の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段および前記流れ停止キャピラリーに適用される低レベルの遠心加速が、 100m/s^2 未満である流体力学回路。

4. 請求項3に記載の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段および前記流れ停止キャピラリーに適用される低レベルの遠心加速が、 1m/s^2 よりも大きい流体力学回路。

5. 請求項2に記載の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段および前

記流れ停止キャピラリーに適用される低レベルの遠心加速が、 20m/s^2 である流体力学回路。

6. 請求項2に記載の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段の出口の半径方向位置が、前記半径方向高さ手段の入口から少なくとも1ミリメートルにある流体力学回路。

7. 請求項6の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段の出口の半径方向位置が、前記半径方向高さ手段の入口から115ミリメートル未満である流体力学回路。

8. 請求項2に記載の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段の出口の半径方向位置が、前記半径方向高さ手段の入口から25mmである流体力学回路。

9. 請求項2に記載の流体力学回路であって、前記半径方向高さ手段の入口と出口との間に配置された液柱の半径方向高さ、前記流れ停止キャピラリーの流路の断面積、および前記低レベルの遠心加速の夫々が、液柱が低レベルの遠心加速を受けたときに、直径を有し且つ液柱の中に懸濁された粒子がその直径の1000倍よりも大きい距離を移動しないように選択される流体力学回路。

10. 低遠心加速で液体の流れを可能にする流体力学回路であって：

入口と、該入口から外側の半径方向位置を有する出口とを含む第一のキャピラリーであって、更に、該第一のキャピラリーの出口を通して液体の流れを可能にする毛細管逆圧を有する液体流路を含む第一のキャピラリーと；

前記第一のキャピラリーの出口と液体流通した入口を含む第二のキャピラリーであって、更に、出口と、該出口を通過する液体の流れを禁止する毛細管逆圧を有する液体通路とを含む第二のキャピラリーと；

前記第二のキャピラリーの出口と共に鋭い移行部分を与え、かつ前記第二のキャピラリーの出口と液体流通している室とを具備し、

前記第一のキャピラリーの入口および出口の半径方向位置は、前記第一のキャピラリーおよび前記第二のキャピラリーに低い遠心加速が適用されたときに、前記第二のキャピラリーを通して液体が流れるように選択される流体力学回路

。

11. 検定カートリッジであって：

本体と；

液体サンプルを収容するように、前記本体の中に形成された第一の容器と；

前記第一の容器と液体流通した第一の末端を有するように、前記本体の中に形成された第一のキャピラリーと；

前記本体の中に形成され、前記第一のキャピラリーの第二の末端と液体流通しており、更に前記第一のキャピラリーからの液体の流れを禁止する毛細管逆圧を有する第二のキャピラリーを含んだ第一の停止ジャンクションと；

前記本体の中に形成され、前記第一の停止ジャンクションと液体流通した第二の容器とを具備し、

前記本体に対して第一の低速心加速を適用した際に、前記液体サンプルは、前記第一の容器から前記第一のキャピラリーを通り、前記第一の停止ジャンクションを通して、前記第二の容器の中に流れる検定カートリッジ。

12. 請求項11に記載のカートリッジであって：更に、

前記本体の中に形成された、希釈剤を保持するための第三の容器と；

前記本体の中に形成された、前記第三の容器と液体流通した第一の末端を有する第三のキャピラリーと；

前記本体の中に形成され、且つ前記第三のキャピラリーの第二の末端および前記第二の容器と液体流通した第二の停止ジャンクションとを具備し、

前記本体に対して第二の低速心加速を適用した際に、前記希釈剤は前記第三の容器から前記第二の容器へと流れるカートリッジ。

13. 請求項12に記載のカートリッジであって：更に、

前記本体の中の少なくとも一部形成された走査キャピラリーと；

前記本体の中に形成され、且つ前記第二の容器および前記走査キャピラリーと液体流通した第三の停止ジャンクションとを具備し、

前記第三の停止ジャンクションは、前記本体に対して第二の低速心加速を

適用したときに、前記液体サンプルおよび希釈剤が前記第二の容器から飛び出すのを防止し、また前記液体サンプルおよび希釈剤の一部は、前記本体に対して前記第二の低速心加速よりも大きい第三の低速心加速を適用した際に、前記第二の容器から前記走査キャピラリーの中に流れるカートリッジ。

14. 請求項13に記載のカートリッジであって、前記本体は第一のプレート、

第二のプレートおよび第三のプレートを具備し、前記第一の容器は第一のプレートおよび第二のプレートの中に形成され、前記第二の容器は第二のプレートおよび第三のプレートの中に形成され、また前記第三の容器は第一のプレート、第二のプレートおよび第三のプレートの中に形成されているカートリッジ。

15. 請求項11に記載のカートリッジであって、前記第一の容器は、蛍光色素に結合された少なくとも一つの抗体を含んでいるカートリッジ。

16. 請求項12に記載のカートリッジであって、前記希釈剤は、前記第三容器の中に配置されたガラス製アンプルの中に含まれているカートリッジ。

17. 請求項13に記載のカートリッジであって、前記走査キャピラリーは矩形の内部断面を有しているカートリッジ。

18. 請求項13に記載のカートリッジであって、更に、前記本体の中に形成された、液体サンプルを収容するための第四の容器と、前記第四の容器と液体流通した第二の走査キャピラリーとを具備しているカートリッジ。

19. 請求項11に記載のカートリッジであって、前記本体は実質的に三角形の形状を有しているカートリッジ。

20. 請求項11に記載のカートリッジであって、前記第一の容器は、種々の量のサンプルを収容する用に構成されているカートリッジ。

21. 全血サンプルを希釈するためのカートリッジであって：

全血サンプルを収容するための第一の手段と；

前記第一の手段と液体流通した、前記第一の手段から全血サンプルを移動させるための第二の手段と；

前記第二の手段と液体流通し、かつ前記第一の手段から半径方向外側に位置した、全血サンプルが前記第二の手段から流れるのを禁止するための第三の手

段と；

前記第三の手段と液体流通した、全血サンプルを収容するための第四の手段（ここで、前記第二の手段および前記第三の手段に対して第一の低速心加速が適用される際に、前記サンプルは、前記第一の手段から前記第二の手段を通り、また前記第三の手段を通して前記第四の手段の中へ流れる）と；

希釈剤を保持するための第五の手段と；

前記第五の手段と液体流通した、前記第五の手段から希釈剤を移動させるための第六の手段と；

前記第六の手段および前記第四の手段と液体流通した、希釈剤が前記第六の手段から流れるのを禁止するための手段（ここで、前記第六の手段および前記第七の手段に対して第二の低速心加速が適用される際に、希釈剤は、前記第五の手段から前記第六の手段および前記第七の手段を通して、前記第四の手段へと流れる）と；

全血サンプルおよび希釈剤の一部を保持するための第八の手段と；

前記第八の手段と液体流通し、また前記第四の手段と液体流通した、全血サンプルおよび希釈剤が前記第四の手段から流れるのを禁止するための第九の手段（該手段は、第二の低速心加速において、サンプルおよび希釈剤が前記第四の手段から出るのを防止する）とを具備し、

前記第九の手段に対して、第二の遠心加速よりも大きな第三の低速心加速が適用された際に、サンプルおよび希釈剤は、前記第四の手段から前記第九の手段を通して前記第八の手段へと流れるカートリッジ。

22. 請求項21に記載のカートリッジであって、更に、前記第四の手段の中に存在する、全血および希釈剤を混合するための第十の手段を具備しているカートリッジ。

23. 検定カートリッジの中で液体サンプルを移動させるための方法であって；

第一の適用ウエルに液体サンプルを適用する工程と；

液体サンプルの第一の部分が、毛細管力の結果として第一のキャピラリーおよび第一の停止ジャンクションの中へ移動するけれども、第一の容器の中へは

移動しないように、第一の適用ウエルと液体流通した第一のキャピラリーと、第一の容器と液体流通した第一の停止ジャンクションとを提供する工程と；

第一のキャピラリーおよび第一の停止ジャンクションの中の液体サンプルに対して、第一の低速心加速を適用することにより、サンプルの第二の部分を用ウエルから第一の容器の中へ移動させる工程とを具備した方法。

24. 請求項23に記載の方法であって：更に、

第一の容器と液体流通した第二の停止ジャンクションと液体流通した第二のキャピラリーと液体流通した第二の容器を与える工程（ここで、第二の容器は希釈剤を含んでおり、その第一の部分は毛細管力の結果として第二のキャピラリーおよび第二の停止ジャンクションの中へ移動するが³、第一の容器の中へは移動しない）と；

第二のキャピラリーおよび第二の停止ジャンクションの中の希釈剤に対して第二の低速心加速を適用することにより、希釈剤の第二の部分を第二の容器から第一の容器の中へ移動させる工程とを具備した方法。

25. 請求項24に記載の方法であって：更に、

第一の容器と液体流通した第三の停止ジャンクションと液体流通した走査キャピラリーを与える工程（ここで、第三の停止ジャンクションは、第二の低速心加速が適用されたときに、液体が第一の容器から流れるのを防止するように構成される）と；

第二の低速心加速よりも大きい第三の低速心加速を適用して、サンプルおよび希釈剤を第一の容器から走査キャピラリーの中に流す工程とを具備した方法。

26. 請求項23に記載の方法であって：更に、第一の適用ウエルに対して液体サンプルを適用する前記工程を行う前に、その工程で使用するための所定量の液体サンプルを測定する工程を具備した方法。

27. カートリッジ内のサンプルを希釈する方法であって：

第一の適用ウエルに液体サンプルを適用する工程と；

適用ウエルと液体流通した第一の停止ジャンクションを有するように形成

された第一のキャピラリーを提供する工程と；

第一の低速心力をサンプルおよび前記適用ウエルに適用することにより、サンプルを適用ウエルから、第一の停止ジャンクションに連結された第一の容器の中に移動させる工程とを具備した方法。

28. 請求項27に記載の方法であって：更に、

第一の容器と液体流通した第二の停止ジャンクションを有するように形成された第二のキャピラリーと液体流通した第二の容器（希釈剤を含む）を与える工程と；

第二の容器および第二のキャピラリーに対して第二の遠心力を適用するこ

とにより、希釈剤を第二の容器から第一の容器の中へ移動させる工程とを具備した方法。

29. 請求項28に記載の方法であって：更に、

第二の低速心力が適用されたときに液体が第一の容器から流れるのを防止する、第三の停止ジャンクションと液体流通した走査キャピラリーを与える工程と；

サンプルおよび希釈剤が前記第一の容器から走査キャピラリーの中に流れるように、第二の遠心力よりも大きな第三の低速心力を適用する工程とを具備した方法。

30. 請求項23に記載の方法であって、更に、第一の適用ウエルに対して液体サンプルを適用する前記工程を行う前に、その工程で使用するための所定量の液体サンプルを測定する工程を具備した方法。

31. 停止ジャンクションを作成する方法であって：

第一の容器と液体流通したキャピラリーを与える工程（ここで、キャピラリーと容器とのインターフェースに鋭い移行部分を形成し、またキャピラリーは円形断面を有する）と；

キャピラリーから容器への液体の流れを防止する、キャピラリーの半径を先タックする工程と；

キャピラリーの中の液体とキャピラリー壁との間の接触角を選択する工程

と；

液体の表面張力を定義する工程と；

キャピラリーの中の液体に対して適用される遠心加速を選択して、液体をキャピラリーから容器へと流す工程と；

キャピラリー内の液柱の最も内側の半径位置および最も外側の半径位置を選択する工程とを具備した方法。

【発明の詳細な説明】**生物学的サンプルの検定のための
使い捨てカートリッジおよび検定方法****〔発明の背景〕**

本発明は、一般には複数の液体サンプルを同時に検定し、各サンプルの中に含まれる一以上の固体成分の濃度を測定するための装置および方法の改良に関する。より詳細に言えば、本発明は、複数の血液サンプルを同時に希釈し、該希釈されたサンプルを画像化器具による分析に提示する検定カートリッジを用いて免疫検定を行うための、検定カートリッジおよび方法に関する。

近年、臨床上に重要な標的成分の診断試験は増大しており、しかもその重要な標的成分はますます多様になってきているので、患者サンプルにおけるこれら成分のルーチンモニターの必要性が生じている。例えば、CD4もしくはCD8表面抗原を発現するTリンパ球の血液濃度は、診断されたヒト免疫不全ウイルス（HIV）患者における疾病段階の信頼できる指標として広く認められている。ルーチン分析のための費用効率の高い信頼できる方法の必要性から、一回使用の検定カートリッジが開発された。

このようなカートリッジでは、少量の血液サンプルが、分析機器のオペレータによってカートリッジに適用される。次いで、カートリッジは残りの検定工程を自動的に実施するための機器の中に挿入される。このような検定カートリッジを使用すれば、使用する試薬の量は最小限になり、またオペレータのミスや生物学的に危険な物質への露出の可能性も軽減される。このようなカートリッジは、サンプルまたは試薬の移送および計量、サンプルの希釈、および分析へのサンプルの提示を含む、種々の検定法に容易に適用される。

生物学的サンプルに存在する種々の標的成分を同定するための、多くの検定法が開発されてきている。このような検定法においては、生物学的サンプル、例えば血液または尿を、検出すべき成分を修飾する試薬と反応させる。普通に用いられる試薬の例には、モノクローナル抗体のような結合性試薬およびリガンド、プロテアーゼのような分解剤、並びに蛍光性色素、uv活性化化合物および放射活性

化合物のようなラベルが含まれる。この試薬は、蛍光色素に結合したモノクローナル抗体であることが多い。画像化装置は、サンプルおよび試薬の混合物の定量分析および定性分析に用いられる。サンプルを試薬と混合してインキュベートしたら、該混合物のアリコートを単離して、目的成分の存在または不存在について分析する。血液サンプルについての免疫検定はこのような検定の例であり、特定の血液細胞に結合させるために蛍光物質を連結させたモノクローナル抗体が用いられる。

検定サンプルのアリコートが全体の生物学的サンプルを代表するためには、分析時に、目的成分がサンプル内で均一に分布することが重要である。検定プロセスは、サンプル内での成分の不均一な分布を生じてはならない。しかし、幾つかの従来技術のカートリッジおよび検定では、サンプルを大きな遠心力にかけるので、サンプル内の成分の分布が破壊される。同様に、血液細胞のように、サンプル中に懸濁されている大きな標的成分は、重力による望ましくない沈降を生じ易い。カートリッジおよび検定プロセスは、サンプル内における標的成分の正しい分布を維持するように構成するのが望ましい。

従来の検定カートリッジの殆どは、単一のサンプルに対して、複数の分析を行うように構成されている。複数のサンプルに対して、一以上の検定を同時に行うことが望ましい。複数のサンプルの同時処理では、検定を処理するときの一定の時間的拘束を考慮する必要がある。例えば、蛍光の放出によって標的成分の濃度が測定されるとき、画像化器具により検出される信号は、サンプルが試薬と接触する時間と共に変化する。従って、全てのサンプルを同一もしくは同様の時間条件を用いて試験することが重要である。

また、存在する標的成分の量を正確に検出するために、生物学的サンプルを希釈することが望ましく、および／または必要とされることが多い。例えば、サンプルおよび試薬の混合物からの蛍光信号が、容易に検出可能な線形領域内に入るように、濃厚な生物学的サンプルを希釈する必要があるかもしれない。しかしながら、希釈の程度は、サンプル内の初期濃度に応じて変わる。従って、分析すべきサンプルを正確に希釈できることが重要である。

サンプル希釈を達成するために、従来技術のカートリッジは、コストが高く且

つ製造が困難な複雑な設計を用いていた。このカートリッジの複雑さは、部分的には、カートリッジ内へのサンプルの秤量に起因している。サンプルの秤量が小さな手動パイプを用いて行われるならば、カートリッジの構造は単純化されるであろう。従って、カートリッジの秤量に関する特徴を省略してカートリッジの設計を単純化するのが望ましい。

カートリッジが独立の希釈装置(self-contained dilution apparatus)を備えているとき、サンプル、試薬および／または希釈剤は、種々の構造のキャピラリー、導管、チャンバー、容器、適用ウエル、および停止ジャンクション(stop junction)を用いてカートリッジ内を移動される。従来技術のカートリッジは、毛細管、重力および／または遠心力を用いて、カートリッジ内の液体を移動させる。毛細管逆圧を用いて、一定の条件下で液体の流れを停止させる一方、他の条件で液体を流す「停止ジャンクション」を形成することが開示されている。このような停止ジャンクションまたは流れ停止キャピラリーは、部品を動かすことなく弁として作用する。該停止ジャンクションは、停止ジャンクションを形成するキャピラリー内の液体に加える圧力、力または加速を変化させることによって、「開」いたり或いは「閉」じたりする。

キャピラリーを用いて停止ジャンクションを形成する従来技術のカートリッジは、低遠心力を用いて、該停止ジャンクションに液体通すことを考慮していなかった。従来技術のカートリッジは、停止ジャンクションに打ち勝つために、高い回転速度または液体レベルを用いる。ある種のカートリッジ設計において、種々の液体レベルは用いられず、或いは望ましくないかもしれない。同様に、血漿または同様の成分を分離するために望ましい高い回転速度は、サンプル内の一定の成分に対しては有害であり得る。従って、検定カートリッジまたは希釈カートリッジは、低遠心力によってサンプル、希釈剤および／または試薬を移動させるように構成するのが望ましい。

希釈流体工学を有する種々の検定カートリッジ、および遠心加速のために構成された種々検定カートリッジが長年にわたって知られており、例えば、このような装置の幾つかの形態が、米国特許第4,728,500号；同第4,756,884号；同第4,946,795号；同第5,061,381号；同第5,112,284号；同第5,173,193号；同

第5,186,844号；同第5,230,866号；同第5,300,779号の中に見られる。検定カートリッジを用いることができる光学系を組み込んだ一つのシステムは、Thomas M. Baer, Louis J. Dietz, Robert S. Dubrow, Paul G. Hayter, Michael Hodges, Bala S. ManianおよびRobert J. Shartleによって発明された「定量的キャピラリー細胞測定のための方法および装置」と題する、本願と同じ譲受人が所有する同時係属の米国特許出願第08/236,342号に開示されており、これは本明細書の一部をなす参照として本願に組み込まれる。同様に、検定カートリッジから入手可能なデータを収集および分析するための方法および装置が、Ning L. SitzoおよびLouis J. Dietzによって発明された「細胞計数および細胞分類のための方法および装置」と題する、本願と同じ譲受人が所有する同時係属の米国特許出願第08/236,645号に開示されており、これもまた本明細書の一部をなす参照として本願に組み込まれる。

従って、液体サンプルの移動および希釈のための検定カートリッジの開発および使用に関して、液体回路を改善する必要性が長年に亘って認識されてきた。上記で本願に組み込まれた出願に記載されているような、一定量の希釈された全血サンプルを使用する画像化器具の導入に伴い、現在では、サンプルおよびカートリッジに高い遠心加速をかけることなくサンプルを移動させるシステムについての必要性が認識されている。本発明は、これら必要性の問題を解決するものである。

【発明の概要】

手短かに且つ一般的に言えば、本発明は、ヒト全血のような生物学的液体のサンプルを分析する画像化器具に使用するための、新規な改善されたカートリッジまたはカセットを提供する。該カートリッジは、希釈剤および蛍光マーカーのような必要な試薬に加えて、同時処理のための複数のチャンネルを含んでいる。研究すべき生物学的液体の複数のサンプルを収容するために、複数のウエルが設けられている。連結された導管のシステムは、一以上の混合室の中へのサンプルおよび希釈剤の移動を制御し、次いで、分析用の一以上の走査キャピラリー中への移動を制御する。

必ずしも限定ではなく、例示としていえば、サンプリングすべき液体が血液であるとき、蛍光色素に結合された抗体を有する第一の試薬が、一以上の適用ウエルの中に配置される。各適用ウエルの中に正確な容量の血液サンプルを負荷するに際し、第一の試薬がサンプルと組み合わせられる。カートリッジを往復運動させて、サンプルと試薬とを完全に混合する。液体導管が、各適用ウエルから、第一の停止ジャンクションを形成する断面寸法を小さくした第一のキャピラリーへと延出している。追加の力を加えなければ、混合されたサンプルは適用ウエルおよび導管内に残存し、第一の停止ジャンクションを通して進むことはない。

血液サンプルまたは他の生物学的液体が第一の試薬と混合された後に、カートリッジは遠心力をかけられ、サンプルは第一の停止ジャンクションを通過して混合室の中に移動される。適用ウエルおよび導管の形状は、画像化器具の円盤上のカートリッジを回転させることにより遠心加速が適用されたときに、停止ジャンクションにおける液体の圧力によって、サンプルが導管を通して混合室の中に流されるように選択される。導管は、混合されたサンプルが適用ウエルを出たときに、サンプルがカートリッジから飛び出るのを防止するように構成されている。サンプルおよび試薬は、予め設定された時間だけ、混合室内でインキュベートされる。カートリッジの中には瓶も収容されており、次いでこの瓶が開けられて、希釈剤が容器および連結導管の中に流される。この導管の先端は、追加の力を適用することなく、希釈剤が第二の停止ジャンクションを通して進むように充分に小さい寸法をもった第二の停止ジャンクションに結合される。

血液サンプルおよび試薬のインキュベーションの後に、カートリッジは再び回転される。カートリッジの中の液体に対する遠心力は第二の停止ジャンクションを破壊し、容器から混合室の中へと希釈剤を流す。混合室は、所定の容量の液体のみを収容できるように、正確に決定された寸法を有している。夫々の混合室からの出口導管には、混合室の中にサンプルおよび希釈剤を維持するための出口停止ジャンクションが設けられている。加えて、夫々の混合室には、サンプルおよび希釈剤の完全な混合を確実にし、且つ粒子またはサンプル成分の沈殿または分離を最小限にするための混合用ボールが含まれている。

インキュベートされたサンプルおよび希釈剤が混合室に満たされたら、カート

リッジは、混合用ボールを所望の混合運動で動かすために、線形に動かされる磁石に近接して位置付けられる。次に、サンプルおよび希釈剤は、所定の時間だけ混合室の中で混合される。この時間が経過したとき、カートリッジを高RPMで回転して、混合された液体が混合室から出口停止ジャンクションを通過するような高遠心加速をかける。

カートリッジの中にはまた、生物学的液体の分析において画像化装置に用いるための、正確なキャピラリーが形成される。上記の高遠心加速の適用に際して、正確な量の混合されたサンプルおよび希釈剤は、混合室から走査キャピラリーの中へと流れる。走査キャピラリーが満たされると、希釈されたサンプルは画像化または他の分析のために、分析装置で利用することが可能となる。本発明のカートリッジにおける材料の構成および使用は、費用のかからない使い捨ての装置をもたらす。こうして、画像化装置による生物学的液体の最後の分析の後に、カートリッジは廃棄すればよい。

複数の走査キャピラリーをカートリッジに含めることにより、複数の生物学的液体の平行処理を可能としてもよい。同じ患者のサンプルに対して異なった検定処理を与えるために、異なった希釈剤および/または試薬をカートリッジに含めてもよい。内部導管およびキャピラリーの寸法は、処理すべき液体の特徴に応じて選択される。上記のように、停止ジャンクションは、遠心加速のような外部の力を加えることなく液体が通過するように、カートリッジの中に構成される。この停止ジャンクションの構成は、向上した精度をもたらす液体移動のための制御された環境を与える。

本発明のカートリッジの独特で且つ新規な特徴の一つは、カートリッジを通したのサンプルおよび希釈剤の流れを制御するための停止ジャンクションを形成する一連のキャピラリー、導管および容器を組み込んだことにある。本発明には停止ジャンクションの構成が含まれており、該ジャンクションの毛細管逆圧は、画像化器具内のカートリッジの比較的遅い回転によって生じる遠心加速の適用によって打ち勝つことができる。各キャピラリー、容器、および停止ジャンクションの断面積、半径方向位置および液圧は、検定プロセス工程の際に、停止ジャンクションを通過する流れを誘起または阻害するように正確に選択される。更に、一

連の選択された遠心加速がカートリッジに適用されて、液体は所望の様式で移動される。

本発明のカートリッジはまた、装着および取り扱い上の特徴を含んでいる。現在のところ、カートリッジの夫々の側の二つのガイドレールが存在し、画像化処理に際してカートリッジを固定位置に保持するために、外部のロック機構を受け入れるロック用の凹部が含まれている。カセットを画像化器具に挿入し、取り出す際に用いるための親指グリップが、カートリッジの先端に取り付けられている。カートリッジは、遠心加速を適用する円形のターンテーブルまたは円盤を有する器具に複数のカートリッジを使用するために、好ましくは実質的に三角形の形状を有している。カートリッジ用のプラスチック製本体が用いられるので、カートリッジの最終的な組立には、超音波融着を利用することが可能である。

こうして、液体サンプルの移動および希釈のための本発明の新規かつ改善された検定カートリッジは、改善された流体力学回路を含んでいる。このような改善された流体力学的回路は、上記で本願に組み込まれた出願の中に記載されたもののように、希釈された固定容積の全血サンプルと共に用いるために特に有利である。この改善された流体力学的回路は、サンプル、器具またはカートリッジを高遠心加速にかけることなく、サンプルを移動させる。更に、低遠心加速を適用したときに液体を流すような停止ジャンクションをもったカートリッジを構成する能力によって、このような検定カートリッジの新規な用途への道が開かれる。

本発明の上記および他の特徴ならびに利点は、実施例として本発明の原理を例示した添付の図面を考慮すれば、以下の更に詳細な説明によって明らかになるであろう。

〔図面の簡単な説明〕

図1は、本発明に従って組み立てられた検定カートリッジの斜視図である。

図2は、図1の検定カートリッジの拡大斜視図である。

図3は、図2の検定カートリッジの頂部プレートの平面図である。

図4は、図3の頂部プレートの底面図である。

図5は、図2の検定カートリッジの中間プレートの平面図である。

図6は、図5の中間プレートの底面図である。

図7は、図2の検定カートリッジの底部プレートの平面図である。

図8は、図7の底部プレートの底面図である。

図9は、図3の頂部プレートの斜視図である。

図10は、図5の中間プレートの斜視図である。

図11は、図7の底部プレートの斜視図である。

図12は、画像化器具の回転円盤の上に載置された10個のカートリッジの平面図である。

図13は、本発明によるカートリッジを用いた希釈プロセスにおいて行われる工程の流れ図である。

図14は、停止ジャンクションを構成するキャピラリーの模式図である。

[好ましい実施例の説明]

例示の図面に示すように、本発明は、生物学的サンプル中の標的成分の定性分析および定量分析のための検査を行うために用いるカートリッジまたはカセットとして具体化される。従来技術のカートリッジは、単に静的な液体制御を用い、或いはカートリッジに高速回転をかけるに過ぎないのに対して、本発明では、サンプル内の標的成分の分布を破壊するかも知れない処理工程を回避する。同様に、本発明は、秤量工程の組み込みによって生じる従来技術カートリッジの複雑さを回避する。

本発明によれば、図1および2に示すように、生物学的サンプルを画像化器具による分析のために提示するカートリッジ20が提供される。本発明のカートリッジは一連のチャンネル、キャピラリー、容器、および停止ジャンクションを用い、毛細管、重力および低速心力の総合的な機能として、サンプル、試薬および希釈剤をカートリッジを通して正確に移動させる。正確な量のサンプルがカートリッジに負荷されるから、カートリッジ流体工学内でのサンプルの秤量は必要ない。従って、従来技術の制限の多くを克服した、実際的で且つコスト効率のよいカートリッジおよび検査プロセスが提供される。このようなカートリッジは、一定容量の検査に関して特に有用である。

より具体的な図2を参照すると、カートリッジ20は、三つのモールド成形されたプレート22、26、30を具備しており、これらのプレートは好ましくは、アクリロニトリル／ブタジエン／スチレン（ABS）、ポリスチレンまたはポリメチルメタクリレートのようなプラスチック等でできている。本発明に組み込まれるカートリッジの製造に適したABSは、「TERLUX 2802 TR」の商標の下に、ミシガン州ワイアンドット（Wyandotte）のBASF社から購入すればよい。これらのABSプレートは、図1に示すように、好ましくは超音波融着によって一緒に融合される。

図3～図11に更に詳細に示すように、頂部プレート22は頂面23および底面24を有している。中間プレート26は、頂面27および底面28を有している。底部プレート30は、頂面31および底面32を有している。これらのカートリッジプレートは更に、重力、毛細管力および遠心力の組合せによって液体を流すために、幾つかのウエル、容器、チャンバー、チャンネル、キャピラリーおよび停止ジャンクションを有するように構成される。図13に示すように、カートリッジを通して液体を移動させるためのプロセスについては以下で更に詳述する。

検定を開始するには、図3～図5に最もよく示されているように、カートリッジ20を処理するために用いる画像化器具のオペレータ（図示せず）が、一対の適用ウエル35、36の夫々に既知量の液体サンプルを負荷する。このような適用ウエルは、断面が円形で全体の形状が円筒状のものとすればよいが、他の形状を用いてもよい。全血について検定を開始するために、100ミリリットルの全血を夫々のウエルに負荷する。正確な量のサンプルが測定される限り、検定は、100ミリリットルより多いか又は少ないサンプルを適用ウエル内に入れるように構成してもよい。希釈プロセスの残りは一定量で操作されるのに対して、サンプル容量を変化させる能力によって可変希釈因子が提供されるので、オペレータは所定の変容量の全血サンプルを適用してもよい。

適用ウエル35および36は、中間プレート26の頂面の27の中にモールド成形された底面38、39と共に形成される。カートリッジ20の組立に際して、固定された量の試薬が、適用ウエルの底面に分注される。CD4/CD8のた

め

の試薬は、典型的には、蛍光色素に繋がれた1以上の抗体を含む蔗糖溶液である。該蔗糖溶液の非常に小さい滴、例えば10マイクロリットルが、夫々の適用ウエルの中に分注され、次いで製造工程における乾燥トンネル（図示せず）を通される。これにより、二つのウエルの底には、血液のような水性溶液の中に容易に溶解可能なマトリックスを形成する、非常に薄い糖質の膜が得られる。

画像化器具のオペレータは、血液サンプルを適用ウエル35および36の中に入れ、血液は直ちに前記試薬に含まれた抗体を溶解させ始める。CD4/CD8検定のために、第一のウエルはCD3およびCD4抗体を含み、第二の適用ウエルはCD3およびCD8抗体を含んでいる。このように、夫々の適用ウエルには二つの異なった抗体混合物が存在する。処理または画像化器具は、例えば、左の適用ウエルがCD4用であり、また右側の適用ウエルがCD8用であると指定することによって、何れのウエルが何れの検定のために用いられるかを決定するように構成されている。こうして、使用者は同じ患者からの血液を二つの夫々のウエルの中に入れることができ、画像化器具は、何れのウエルが夫々の検定を含むかを決定する。

図4、5および9に示すように、適用ウエル35および36は、混合室入口キャピラリー41および42と液体流通している。このような混合室は、該チャンバーの混合特性を高めるために、五角形の断面形状を有していてもよいが、他の形状の混合室を用いてもよい。血液が各適用ウエルに添加されると、毛細管力および重力の組合せによって、夫々の入口キャピラリーが満たされる。キャピラリーは、図3および図4に示すように、一対の混合室入口停止ジャンクション44および45に至る全ての通路を満たす。ABSのようなカートリッジ材料の濡れ性および毛細管作用は、プラズマエッチングまたは同様の技術によって向上され得る。

混合室入口停止ジャンクション44および45は小さな円形のキャピラリーであり、該キャピラリーは、入口キャピラリー41および42を混合室48および49に接続している中間プレート26を通過する。入口停止ジャンクションの典

型的な直径は0.5mm~1.5mmの範囲であり、好ましくは1.1mmである。停止ジャンクション又は流れ停止キャピラリー(stop flow capillaries)は、必ず

しも円形断面の形状とする必要はなく、また、カートリッジの少なくとも二つのプレート、即ち、カートリッジプレート22、26および30の二つの表面またはレベルに最良に作り込まれる。

サンプル液は、混合室入口キャピラリー41および42を通して流れるので、該液体はまた、適用ウエル35、36内のサンプルによって生じる毛細管力および重力の組合せにより、二つの洗浄停止ジャンクション51および52をも満たす。この洗浄停止ジャンクションはサンプルを満たすけれども、各停止ジャンクションを越えて液体を流すことはない。洗浄停止ジャンクションは、検定プロセスの後ろの方の工程で希釈剤が停止ジャンクションを通して流れ、入口キャピラリーの中に残留するサンプルを洗い落とすように配置されている。また、検定の後の方の工程では、洗浄停止ジャンクションに沈殿した何れかの血液細胞が溶解し、又は洗浄停止ジャンクションを通して移動することを確認するように警告をしなければならない。各停止ジャンクションは十分に強いので、重力または夫々の適用ウエル35および36の血液により生じた頂部圧(head pressure)に関連した静的圧力に耐え得る。好ましくは、各適用ウエルは、希釈プロセスのこの時点では約1/3が満たされており、重力による僅かな頂部圧を生じる。適用ウエルは、混合室入口停止ジャンクション44および45、または洗浄停止ジャンクション51および52を破壊するには頂部圧が十分でないように形成される。四つの停止ジャンクションが破損しないことが重要である。従って、停止ジャンクションは、適用ウエル内のサンプルによって生じる頂部圧に耐えるように、十分に小さい断面積をもつような寸法とする。円形の洗浄停止ジャンクションの典型的な直径は、0.375~0.75mm、好ましくは0.5mmである。

希釈法のこの時点では、最初の100マイクロリットルの血液サンプルのうちの略85マイクロリットルが未だ適用ウエル35および36の中に存在する。約15マイクロリットルのサンプルが、混合室入口キャピラリー41および42の中に存在する。適用ウエル内に付着された抗体を含む乾燥試薬は、血液中に溶解

し始める。対流の増大、拡散に基づく混合、および試薬の溶解を与えるために、画像化器具によってカートリッジを前後に往復運動させる。

図3、図4および図9に示すように、カートリッジ20の頂部プレート22は、

血液サンプルが各適用ウエル35および36に滞留し、ウエルの外にこぼれないように設計され、構成されている。適用ウエルは、サンプルの適用後に1/3だけが満たされるような最大容量で形成されている。ウエルは更に、カートリッジを往復運動させるときにサンプルおよび試薬をウエルの中に保持する鋭いエッジを有している。このような適用ウエルの形状によって、約3分以内の往復運動で、抗体が血液サンプル中に均一に溶解するような良好な混合が与えられる。

しかし、入口キャピラリー41および42の中にある血液サンプルの一部は、抗体含有試薬に対して少ししか露出しないか、または露出されない。キャピラリーの中の血液細胞を抗体に露出させるために、適用ウエル35および36からの残りの試薬含有サンプルは、混合室48および49の中に移送されなければならない。同一の画像化器具の中の複数のカートリッジに対して複数の検定が行われ、各サンプルおよび試薬のインキュベーションが同時に生じるときには、このような移送は特に重要である。夫々の入口キャピラリーからのサンプルの一部が混合室へ移送されないならば、サンプルのインキュベーションが不完全となり、画像化装置の分析にエラーが導入されるであろう。

検定プロセスのこの時点において、適用ウエル35および36からの85マイクロリットルのサンプルのうちの70マイクロリットル、並びに入口キャピラリー41および42からの15マイクロリットルのサンプルは、毛細管力、重力および遠心力の総合によって混合室48および49へと移送される。合体されたサンプルおよび試薬のうちの15マイクロリットルは、夫々の入口キャピラリー中に残る。カートリッジ20を回転させることによって、適用ウエルの直接的な加圧を回避され、ポンプの使用、およびカートリッジと他の種類の物理的接触が回避される。カートリッジを回転させることにより、入口キャピラリーの中の液体に遠心力による加速が与えられ、これによって毛細管逆圧に打ち勝つ主要な力

が入、口停止ジャンクション44および45に生じる。更に、画像化器具の単一の円盤110上で複数のカートリッジを回転させることにより(図12参照)、複数のカートリッジについて同時に、混合室へのサンプルの輸送を達成することができる。

混合室48および49の中へのサンプルの輸送は、ここで詳細に述べるように、

入口停止ジャンクション44および45の断面積の寸法設定および半径方向の位置によって行われる。円形の入口停止ジャンクションの好ましい直径は、略1.1 mmである。その結果、液体柱を入口停止ジャンクションに導くような低速心加速を生じる回転速度、例えば80回転/分(RPM)でカートリッジ20が回転されると、混合室入口キャピラリー41および42内に、入口停止ジャンクションでの逆圧に打ち勝つ圧力が与えられる。ABSカートリッジ材料を酸素プラズマで処理することによって、毛細管逆圧を増大させてもよい。

カートリッジ20の回転に際し、サンプルは試薬と共に適用ウエル35および36から混合室48および49の中に流れる。各適用ウエルに適用された最初のサンプルが100マイクロリットルの全血を含んでいた場合、15マイクロリットルは混合室入口キャピラリー41および42の中に残留するから、夫々の混合室は略85マイクロリットルの抗体含有血液で満たされる。加えて、入口キャピラリーの寸法は、その中の毛細管力が十分に強く、カートリッジの最大回転速度において入口キャピラリーがサンプルで満たされるように設定される。こうして、各混合室入口キャピラリーは血液で満たされたままとなり、混合室入口停止ジャンクション44および45との液体接触を維持する。同様に、入口キャピラリーの中のサンプルは、洗浄停止ジャンクション51および52との液体接触を維持するが、これはカートリッジの機能にとって非常に重要である。

混合室46および49へと移動してしまったら、各入口キャピラリー41および42の中にあった血液サンプル部分は、先に各適用ウエル35および36(現時点ではサンプルは入っていない)の中にあった血液と混合されてしまったことになる。血液サンプルはまた、蛍光性の抗体を含む試薬と混合され、該混合物は

混合室の中でインキュベートされて反応する。この時点において、最初の100マイクロリットルのサンプルのうちの約85マイクロリットルが、混合室の中に存在する。約15マイクロリットルのサンプルは入口キャピラリーからのものであり、多分多くの抗体を含んでいなかった。他の17マイクロリットルは適用ウェルからのものであり、全体のサンプルのための十分な抗体を有している。

混合室入口キャピラリー41および42の容積を維持することは、混合室48および49に入るときに、試薬を有していないサンプルの容量の変化を最小限に

するために極めて重要である。各入口キャピラリーの中の残りのサンプルが混合室の中に洗い流される次のプロセスにおいては、このキャピラリー容積を最小化することもまた重要である。また、検定を最適化するには、正確なサンプル標識化の程度を与える広い濃度範囲が存在するように、過剰量の抗体が用いられる。

希釈プロセスのこの時点において、血液サンプルおよび試薬は、インキュベーションのために混合室48および49へ移送されている。CD4/CD8検定のためには、可能な限り多くの抗原部位に対して抗体が結合するのが望ましい。従って、サンプルおよび試薬は、反応を完結に至らしめるのに十分な時間、例えば20分間、反応またはインキュベートさるべきである。インキュベーション期間の間、画像化器具はカートリッジ20の回転を停止または継続させるように構成すればよい。カートリッジの回転を停止して細胞の移動を最小限にし、器具の騒音および磨耗を低減し、また診断の品質制御を行うのが好ましい。例えば、画像化器具が混合室48および49の中にサンプルが存在することを検出できるように、図3および図9に示した光学走査ポート95および96が設けられている。

インキュベーションが完了した後の次の工程は、サンプルを希釈して、該サンプルおよび希釈剤の混合物を画像化器具で走査するために輸送することである。

希釈を行う一つの理由は、過剰の抗体による蛍光のバックグラウンドノイズを低下させることである。検定のためのインキュベーション期間を最小限にするために、また反応を完結に至らしめるために、大過剰量の抗体が試薬中に用いられる。サンプル中の血液細胞がラベルされた後にも、殆どの抗体はサンプルの液相

、即ち血漿中に懸濁されて残存する。希釈を行うもう一つの理由は、サンプル中の赤血球の密度を低減させることである。このような細胞は比較的大きいため、画像化器具が標的細胞委の蛍光信号を処理する能力を妨害する。

抗体含有細胞および血漿の未希釈混合物を走査すると、血漿は、結合した細胞に対して望ましくない蛍光レベルを有し得る。蛍光に結合した細胞はバックグラウンド蛍光から区別され得るが、過剰量の抗体によって生じるノイズの量は、正確な分析には望ましくないであろう。従って、分析の精度および正確さを最適化するために、サンプル混合物は2.75:1のファクターで希釈して、バックグラウンドノイズをより許容可能なレベルにまで低下させる。

図2に示すように、ガラスまたはこれと同様に容易に破壊され得る材料でできたアンブルが、カートリッジ20の中に配設または装着される。このガラス製アンブルは、カートリッジを組み立てる際に、保持室または希釈容器62の中に挿入される。好ましい実施例において、円筒状のガラス製アンブルには、テキサス州ヒューストンのカーチン・マチソン・サイエンティフィック社 (Curtin Mathison Scientific; CMS) から入手可能なウシ血清およびミズリー州セントルイスのシグマコーポレーション社から入手可能な結晶性ナトリウムアジドを混合した、CMSから入手可能なダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水のような、約1000マイクロリットルの希釈剤が含まれている。このアンブルはガラス製であり、且つ非常に規則的に破壊されるように設計および製造されている。好ましいアンブルは、8.0mmの直径と約38.6mmの長さを有する楕円形である。この特定の形のアンブルは、ニュージャージー州ブレアスタウン (Blairstown) のジェームス・アレクサンダー社から入手可能である。

サンプル混合物を希釈するために、画像化器具 (図示せず) のシャフトまたは同様の部材でカートリッジ20を叩いてガラス製のアンブル60を破壊し、希釈剤を希釈剤容器62の中に放出させる。シャフトで希釈剤容器の頂部壁64を十分に下方にずらすことにより、アンブルを破砕する。複数のサンプルカートリッジを処理するときに、画像化器具がカートリッジを一つ叩くと、サンプル混合物は同時に正確には希釈されず、これは最適ではないであろう。上記のようなCD

4 / C D 8 検定については、ガラスアンプルの連続的に破碎するのが適切である。

図6、図7および図11に示すように、希釈剤出口キャピラリー66は、希釈剤容器62から希釈剤を引き込むために、カートリッジ20の中間プレート26および底部プレート30の中に形成されている。希釈剤出口キャピラリーは、好ましくは断面が円形である。ガラス製アンプル60が画像化器具によって破壊されると、希釈剤は、重力および毛細管力の組合せによって出口キャピラリーを満たす。希釈剤キャピラリーは、その先端（ここでは希釈剤出口停止ジャンクション68が中間プレート26に形成されている）まで満たされる。容器の中の希釈剤レベルによって生じる頂部圧力は、希釈剤停止ジャンクションの毛細管強度を克服するためには不十分であるから、停止ジャンクションは、希釈剤が更にカー

トリッジの中に流れるのを防止する。その結果、画像化器具は、希釈剤をサンプルと混合させることなく、連続的にガラス製アンプルを破壊し得る。これによって、カートリッジの複数の処理が提供され、ここでは複数の混合室内でのサンプルの希釈が同時に起こる。

サンプル希釈剤を含有するガラス製アンプル60は、夫々のカートリッジ20について、適用ウエル35および36の両者からのサンプルを希釈するために用いられる。或いは、夫々の適用ウエルおよびサンプルについて、別のガラス製アンプルまたは希釈源を設けてもよい。同様に、画像化器具または使用者によって、適用ウエルまたは同様の入口ポートに希釈剤を投与することもできるであろう。図2に示したカートリッジの構成は、単一のガラス製アンプルを与え、これは希釈源を画像化器具から排除しつつ、カートリッジの寸法およびコストを低減する。

希釈プロセスにおける次の工程は、混合室48および49の中へ希釈剤を移動させることである。図5および図6に示すように、複数のキャピラリーおよび停止ジャンクションを用いて、夫々の混合室入口キャピラリー41および42から、残存するサンプルを夫々の混合室の中へと洗い流す。希釈剤出口停止ジャンクション68の中のキャピラリーは、8RPMよりも若干低い回転速度において、

希釈剤が停止ジャンクションを通り抜けるような寸法に設定される。カートリッジの回転プロファイルは、好ましくは、回転スピードが10秒以内に8RPMにまで上昇し、15秒間8RPMを保持し、5秒以内にゼロRPMに下がるように設定される。また、このような回転プロファイルは、先に説明した混合室入口停止ジャンクション44および45を破壊する工程のためにも用いることができるであろう。

カートリッジ20を回転させることによって生じる液圧が希釈剤出口停止ジャンクション68を上回ると、希釈剤は、頂部プレート22の底面24および中間プレート26の頂面27に形成された希釈剤交叉チャンネル70の中に入る（図4および図5参照）。この液圧によって、希釈剤は、交叉チャンネルを通して希釈剤交叉チャンネル出口キャピラリー72の中に通される（図5および図6参照）。希釈剤は更に、中間プレートの底面28および底部プレート30の頂面31に形成された希釈剤連結チャンネル74の中に流れる（図6および図7参照）。この

希釈剤連結チャンネルには、第一の連結アーム75および第二の連結アーム76が含まれており、夫々のアームは、液体がキャピラリーを満たすときに空気をバージするための通気孔77および78を有している。

この希釈剤連結チャンネルは、混合室入口キャピラリー41および42に対するインターフェースを提供する。第一の連結アーム75は、第一の洗浄停止ジャンクション51の下の中間プレート26の底面に位置している。同様に、第二の洗浄停止ジャンクション52の下の中間プレートの底面に、連結アームが位置している。こうして、洗浄停止ジャンクションにおいて、希釈剤と血液サンプルとの間に液体インターフェースが形成される。その結果、容器62の中の希釈剤と混合室48および49との間に連続的な流体力学的回路が形成され、これによって希釈剤は混合室キャピラリーの中に残留する血液サンプルを洗い流す。

夫々の混合室48および49は希釈剤容器62から半径方向外側に位置しているから、希釈剤容器から混合室への希釈剤の流れを生じる遠心力加速によって、遠心的な分割力が形成される。希釈剤容器は、希釈剤出口キャピラリー66、希

希釈剤交叉チャンネル70および希釈剤連結チャンネル74を介して排液される。希釈剤は、各洗浄停止ジャンクション51および52の中に強制的に通され、各混合室入口キャピラリー41および42を洗い流す。この希釈剤は、入口キャピラリーから混合室の中へと試薬含有血液サンプルを洗い流す。

従って、希釈剤は、破碎されたガラス製アンプル60から希釈剤容器62に流れ、出口キャピラリー66を通して出口停止ジャンクション68にまで流れ、交叉チャンネル70を通して交叉チャンネル出口キャピラリー72に流下して、希釈剤連結チャンネル74へと流れる。同じカートリッジ内での複数の検定のための検定プロセスにおけるこの時点で、希釈剤の流れは少なくとも二つの異なった方向へと向けられる。希釈剤は第一の連結アーム75へ、並びに第二の連結アーム76へと流れる。この希釈剤は、各洗浄停止ジャンクション51および52まで強制的に流され、また混合室入口キャピラリー41および42の中に流されて、残留している血液サンプル混合物を、混合室入口キャピラリー44および45を通して混合室48および49の中へと洗い落とす。

希釈剤は、希釈剤が混合室の通気孔80および81を満たすまで、夫々の混合室48および49を完全に満たす。混合室が希釈剤で満たされる間に、空気は通気孔から押し出され、これは停止ジャンクションとして機能する。これら二つの通気孔の寸法は、液体の流れに耐え、液体が混合室から流れ出すのを防止するように十分に小さく設定されている。この時点において、混合室通気孔の毛細管強度に打ち勝つには不十分な圧力しか存在せず、またサンプルと希釈剤との混合物が完全に混合室を満たしたら、希釈剤の流れは停止する。

夫々の混合室48および49は、先に添加された85マイクロリットルの血液サンプルおよび試薬、入口キャピラリー41および42からの15マイクロリットルの血液サンプル、並びに175マイクロリットルの希釈剤を含む約275マイクロリットルの液体で満たされる。こうして、入口キャピラリーについて少なくとも10回の洗浄が行われ、夫々の入口キャピラリーからは全ての血液細胞が混合室の中へと除去される。入口キャピラリーの中での血液細胞の何らかの沈殿に打ち勝つためには、残留血液サンプルに対する希釈剤の洗浄速度または洗浄率(washout r

atio)が重要である。

この時点で、カートリッジ20の回転が停止される。各キャピラリー、容器および停止ジャンクションは、カートリッジ内で液体を更に移動させることなく、カートリッジが静的状態に戻ることを可能にするように構成されていることを認識することが重要である。画像化器具による分析に先立って、混合室48および49内の希釈剤、血液サンプルおよび試薬は、完全に混合されなければならない。好ましくは、各混合室には、カートリッジの外部からの力によって動かされる混合部材が含まれている。例えば、画像化器具の中の磁石を用いて、混合室の内部周囲のボールまたは同様の混合部材を直線的に往復させればよい。或いは、カートリッジを往復運動させて、混合室内部の液体をボールで攪拌させてもよい。

カートリッジ20並びに関連のキャピラリーおよび停止ジャンクションは、カートリッジが回転を止めたときに、夫々の液体インパフェースが確実に維持されるように構成される。停止ジャンクションは、液体が一つの混合室またはキャピラリーから他へと移動するのを防止して、カートリッジが停止したときの液体の位置を安定化させる。停止ジャンクションの強度は、10~40mm水柱の範囲であり、希釈剤およびサンプルを当該位置に保持するのに十分な値よりも大きい。

サンプル、試薬および希釈剤が混合室48および49の中に収容されたら、この液体混合物を完全に混合しなければならない。一つの混合方法は、画像化器具の中で全てのカートリッジ20を同時に混合することであろう。同時混合は、全てのカートリッジを同時に往復運動させることによって達成できるであろう。混合室内の液体を混合する別の方法は、夫々のカートリッジを、画像化器具の中の固定された混合ステーションに割り出すことである。一連の連続的な混合には、夫々のカートリッジが、カートリッジ内の各混合室のための異なった位置に割り出されることが必要とされる。

混合室48および49の中の液体の同時混合は、検定プロセスで先に用いた同じ往復運動を用いて、適用ウエル35および36内の試薬を溶解してもよい。混合を促進するために、混合室の壁は、カートリッジ20が前後に往復運動するときに、混合用のボール97および98が各区混合室の中で三角形の運動で動くよ

うな角度をもたせて形成されている。こうして、全てのカートリッジの各混合室は同時に混合される。

同時混合は、連続的な一連の混合に比較して幾つかの利点を有している。例えば、カートリッジを往復運動させることにより、一連の連続した方法に用いられる望ましくない磁力が排除される。同様に、画像化装置の中の磁力混合機構の必要性も除去される。同様に、カートリッジは先の工程で往復運動されるから、往復運動機構が利用可能である。更に、全てのカートリッジの混合が同時に行われる。従って、最初の混合室49および49の混合から最後の混合室の混合までのタイムラグがない。カートリッジを往復運動させることの一つの欠点は、混合室の全長を混合用ボール97および98によって掃討し得ないことである。従って、同時混合および連続的混合を組み合わせることが望ましいであろう。

一連の連続的な混合方法は、画像化器具の中での直線運動で移動される永久磁石および夫々のカートリッジ20の混合室48および49の中の磁力スターラーを用いる。このスターラーは、金属またはセラミック製の混合用ボール97および98、棒または当業者に周知の同様の機構であればよい。画像化器具は、混合室が磁場に対して近接して位置づけ、一つの混合室を一度に割り出すように、夫々のカートリッジの移動または割り出しを行う。次いで、夫々の混合用ボールは、

混合室内部で略2～10秒の間、10～12ヘルツの範囲で往復運動される。画像化器具は、全ての混合室が完全に混合されるまで、夫々のカートリッジに対して連続的に一連の割り出しを行う。

連続した一連の混合の一つの欠点は、サンプルの成分が沈殿する蛍光があることである。特に、血液サンプル中の細胞は、サンプルの分析にエラーを導入する可能性がある。最初の混合室48が混合されるときから最後の混合室49が混合されるまで、最初の混合室の中のサンプルはかなりの時間静止される。ここに開示した構造において、希釈されたサンプルは、各混合室から出されてタンクの頂部に移送される。もし顕著な沈殿が起こったら、それを除去された、混合室内に残存するサンプル部分の中には、異なった（少数の）細胞が存在するであろう。

同様に、サンプルが混合室の底部近傍から取り出されたときは、除去されたサンプルの部分は望ましくない高い細胞計数を有するであろう。従って、何らかの顕著な沈殿が生じたときは、不均一なサンプルに起因した画像分析のエラーが導入されるであろう。混合室内のサンプルの均一な分布を維持するために、各混合室は、画像化器具の中の磁石の近傍に再度刮り出され、また夫々の混合用ボール 97 および 98 は、0.2秒～1.0秒の間 2～10ヘルツで往復運動される。この最終的な混合工程は、走査キャピラリー 100 および 101 を満たす前に行われる。

サンプル、試薬および希釈剤を混合した後、カートリッジ 20 を高速回転にかけ、希釈されたサンプルの一部を、それぞれの検定のために一対の走査キャピラリー 100 および 101 の中に移動させる。カートリッジの回転は 10秒間で 110 R P M にまで上昇され、その速度で 20 秒間保持され、次に 5 秒間でゼロ R P M に落とされる。高速回転されている間に、混合サンプルの一部は混合室 48 および 49 から、そうでなければ停止ジャンクションとして機能する混合室通気孔 80 および 81 を通して流出する。高速回転によって、停止ジャンクション逆圧に打ち勝つのに十分な圧力が通気孔に発生する。

希釈されたサンプルは、混合室の通気孔 80 および 81 から、中間プレート 26 の頂面および頂部プレート 22 の底面の一対の走査キャピラリー連結チャンネル 84 および 85 を通って流れる。希釈されたサンプルは、中間プレートの底面 28 の一対の走査レベル移送チャンネル 86 および 87 を通って流れ続ける。液

体の圧力は、希釈されたサンプルを、移送チャンネルを通して一対の走査キャピラリー導入チャンネル 88 および 89 の中に移動させ、二つの走査キャピラリー導入ポート 90 および 91 を通って上方に移動させる。

図 2 および図 5 に示すように、夫々の走査キャピラリー 100 および 101 は、実施すべき夫々の画像化分析のためのペダスタル (pedestal) 102 および 103 の中に装着される。これらペダスタルは中間プレート 26 に装着され、頂部プレート 22 中のペダスタル切り欠き 105 および 106 内に位置する。夫々の走査キャピラリーの一端は、走査キャピラリー導入ポート 90 および 91 に近接して配置される。走査キャピラリーの一端は換気のために開放されており、他端は

導入ポートに連結されている。希釈されたサンプルは、遠心力、毛細管力および重力の組合せによって夫々のキャピラリーの中に流入する。走査キャピラリーの導入ポートにおける圧力によって、走査キャピラリーは端から端まで満たされる。走査キャピラリーに侵入する液体の遠心加速によって生じる圧力増大は、毛細管力および重力単独で走査キャピラリーを満たすときに通常見られる泡の形成を防止する。メニスカスの形状が泡の形成が影響することが観察されているが、このメニスカスの形状は走査キャピラリーの入口における全圧によって影響される。

夫々の走査キャピラリー100および101は、約54.0mmの長さ、0.66mmの高さ、約0.870mm幅の外側寸法を有している。各走査キャピラリーの内側断面は、約0.1mm×0.666mmの矩形を形成しており、非常に強い毛細管力を生じる。希釈されたサンプルが該走査キャピラリーの末端に到達すると、強力な毛細管力が、走査キャピラリーの先端からサンプルが流出するのを防止する。希釈されたサンプルは、走査キャピラリーの出口端部の液体に対する遠心力圧がないか或いは少ししかないように、希釈剤容器62が希釈剤出口キャピラリー66と略同じ半径位置にある点まで流れる。こうして、希釈されたサンプルが走査キャピラリーから押し出されるような駆動力は、それが完全に満たされたときには、少ししか存在しないか或いは全く存在しない。

走査キャピラリー100および101は、約2.75マイクロリットルの希釈剤サンプルで満たされる。適用ウエル48および49に混合した275.0マイクロリットルの希釈されたサンプルのうち、2.75マイクロリットルのみが画像化器具によ

って走査され、細胞の計数が行われる。各走査キャピラリーの内部断面は、画像化器具が検出する明確な縁部を形成するように、好ましくは矩形である。走査キャピラリーは、好ましくは高品質ガラス、例えば「パイレックス(PYREX)7740」の商標でニューヨーク州コーニングのコーニング社から販売されているもの、「デュラン(DURAN)8330」の商標でペンシルベニア州デュルエア(Duryea)のスコットガラステクノロジー社から販売されているもので造られる。走査キャピラリーのための他の適切な材料は、ペンシルベニア州プリストルのアルトハース、ノー

スアメリカLtd.から入手可能な「ブレキシガラスVS-UVT」のようなアクリル系、およびミシガン州ミッドランドのダウケミカルカンパニー社から入手可能な「スタイロン663」のようなポリスチレン類である。

本発明には、全血サンプルを希釈するための低速心加速の使用を含んだ検定カートリッジが含まれる。カートリッジ内で液体を移動させるための低速心加速の使用は、高速回転の使用、即ち高速心加速に比較して幾つかの利点を有している。第一に重要なことは、リンパ球および赤血球のような標的血液成分が、サンプル内での本来の分布から著しく逸脱しないことである。多くの従来技術のカートリッジの設計は細胞分離のために構成されているのに対して、サンプル内の均一な細胞または特定の分布を維持することは、これまではカートリッジ構成における大きな関心事ではなかった。しかしながら本発明においては、流体力学回路、即ち、適用ウエル、容器、室、導管およびキャピラリーが、細胞の移動を最小限にして、サンプル中の粒子の均一な分布を維持することを第一の目的として構成されている。加えて、カートリッジに加えられる低速心加速は低い値に維持され、動力学的にバランスされていない画像化器具の円盤が、器具の磨耗を最小限にすることを可能にする。同様に、低速心加速によって、高速心加速を用いたときには利用できないような、ステッパモータおよびカートリッジ登録技術の使用が可能になる。

本発明の基礎を成す一つの原理は、外力を用いることなく、毛細管力を用いて液体を移動させることである。第二の基礎的原理は、キャピラリーを通しての液体の流れを、停止ジャンクションまたは流れ停止キャピラリーを形成することによって停止できることである。本発明において、停止ジャンクションは、直径が

比較的小さいキャピラリーから比較的大きな直径の導管または室に至る、鋭い移行部分(sharp transition)を形成することによって構成される。キャピラリーの中の液体の表面張力は、キャピラリー中に流れを阻止する逆圧を生じさせる。停止ジャンクションを形成する夫々のキャピラリーは、毛細管力および重力の合計だけでは毛細管逆圧に打ち勝たないように構成される。本発明に用いられる第三の原理は、低速心加速を使用して、この逆圧に打ち勝ち、または停止ジャンクシ

ョンを破壊することである。カートリッジには、該停止ジャンクションを通して液体を流す圧力を停止ジャンクションに生じさせる低速心が適用される。

本発明によれば、停止ジャンクションの逆圧に打ち勝つために用いられる遠心加速は、検定カートリッジを回転させる従来技術のシステムに見られるものに比較して比較的小さい。従来技術のシステムは直径6インチのカートリッジを4000 R P Mで回転させるのに対して、本発明の一実施例のカートリッジは、約2インチの直径の円盤上に載置されて、僅か70から150 R P Mで回転されるように構成されている。12インチの円盤は、図12に示すように10個のカートリッジを取容できる。低速心加速を利用したカートリッジ内の液体回路の他の実施例を、より多くのカートリッジを有するより大きな円盤、またはより少ないカートリッジを有するより小さな円盤を取容するために用いてもよい。例示の目的で述べれば、4000 R P Mで回転する直径6インチの円盤は、カートリッジに対して約1300 g ($12,750\text{m/s}^2$)の遠心加速を作用させる。これに対して、150 R P Mで回転する直径12インチの円盤は、カートリッジに対して約2.5 g (24.5m/s^2)の遠心加速を作用させる。

低速心加速を維持する一つの理由は、カートリッジの回転期間の間の細胞の移動を最小限にすることである。概略的に見積もれば、赤血球細胞は、海面での重力に等しい加速を受けたとき、ヒト血漿中で1秒当たり約1ミクロンの最終速度に達する。画像化器具は粒子または細胞の位置に敏感であるから、走査キャピラリー内での細胞移動を最小限にすること、例えば粒子直径の1/1000まで粒子の移動を制限することは有利である。

また、サンプル中の細胞が走査キャピラリーの壁へと移動し、そこに集積してサンプルの正確な分析を阻害するのを防止することも重要である。図1に示すよ

うに、走査キャピラリーがカートリッジの半径に沿って長手方向に位置するとき、細胞はキャピラリーの全長に亘って伸びる経路に沿って移動する。しかし、走査キャピラリーが円盤の半径方向軸に対して実質的に直角に位置するならば、細胞は、走査キャピラリーの縁部に衝突してその壁に沿って集積するまでに、比較的短い経路に沿って移動するに過ぎない。

画像化器具の円盤の回転速度および検定カートリッジに加えられる低速心加速が望ましいことには、細胞移動の問題の他に、幾つかの他の理由が存在する。例えば、図12に示すように、画像化器具はその円盤上に種々の数のカートリッジを保持するように設計されているから、該器具の円盤には一部のカセットしか装着されないことも屢々あることが予想される。奇数個のカセットを載せた円盤は、力学的にバランスがとれないであろう。従って、高速で回転させると、円盤には画像化器具のベアリング表面を損傷するような力が加わり得る。低速であればこのような力は一般に減少し、器具の寿命および信頼性は改善される。

画像化器具の円盤を回転させるために想定されるタイプのステッパモータ系は、限定されたダイナミックレンジを有しているから、円盤の低速回転を維持するのが有利である。1回転当たりの固定されたステップ数と最大ステップ速度とを有する所定のステッパモータ系については、達成し得る最大回転速度とシステムの最大ステップサイズまたは角変換(angular resolution)との間に常にトレードオフが存在する。1ステップ当たりの角変化が小さいシステムを望むときは、ステッパモータのダイナミックレンジが限定されるとすれば、小さい角速度を有するようにシステムを設計することが重要である。従って、ステッパモータの1ステップ当たりの角速度変化が小さい円盤を用いることができるように、カートリッジの流体回路は低角速度で動作するように設計される。

同様に、角速度が増大するに伴って、カートリッジに対する遠心力も増大する。高速回転において、この力は、正確なカートリッジ登録を維持するのに特別の固定を必要とするほど十分に大きくなり得る。低速回転を利用すれば、この遠心力は、単純なカートリッジ登録機構を可能とするのに十分に低レベルに維持される。

こうして、本発明のカートリッジを設計するときには、停止ジャンクションを

破壊するのに必要な最小液圧を計算することが重要である。このような設計に関連した幾つかの変数がある。まず第一に、従来技術において教示されているように、停止ジャンクションを形成している流れ停止キャピラリーの断面積は、サンプル中に用いられる液体のための液流を停止するために必要な逆圧を生じさせる

上で基本的なものである。同様に、カートリッジを高速回転させ、または液柱に対して重力による頂部圧を生じさせることは、当該技術において公知である。液体の表面張力および密度もまた、停止ジャンクションの強度に寄与する因子であるが、通常は変数としてではなく一定であるものとして扱われる。同様に、キャピラリー壁と液体との間の接触角は問題とされるが、ABSのプラズマエッチングのようなある種の製造時の処理プロセスがない場合には、この接触角もまた一定として扱われる。静止ジャンクションの半径方向の位置を合目的的に形成および選択するして、液柱の「半径方向の高さ(radial height)」を操作し停止ジャンクションでの圧力を増大することにより、カートリッジに不必要な高い遠心加速をかけずに液体の流れを開始させることは、当該技術においてこれまで認識も教示もされていなかったことであり、本発明の一部をなすものである。

キャピラリー内の液体の最も内側の点に対する、停止ジャンクションの半径方向の位置を操作することの利点は、以下に概説する工学および物理学の一定の基礎的な方程式を考察することによって理解することができる。このような方程式は、望ましい遠心加速および回転速度を受ける所定の停止ジャンクション断面積について、毛細管逆圧に打ち勝って、粒子もしくは細胞の最小限のまたは許容可能な移動を生じるために必要な、キャピラリーの最も内側の位置に対する特定の相対的な半径方向の位置を誘導するために用いることができる。何れかの所定の遠心加速について、停止ジャンクションに作用する圧力を決定するのは、液柱の最も内側の点と停止ジャンクションの半径方向位置との間の、半径方向の位置の差である。

以下で述べることは、カートリッジの流体回路成分の、半径方向の位置を選択するために用いる方程式の議論と誘導である。幾つかの例が示され、また表1にまとめられている。例えば方程式1は、停止ジャンクションを通して流れを誘起させるために、発生させなければならない圧力を定義している。方程式1は、ア

ダムソン(W. Adamson)著の「表面の物理化学(Physical Chemistry of Surface)」第4版に概説されている、ヤングと等プラスの方程式の毛細管上昇についての適用から誘導される。図14に示すように、キャピラリーの半径「R」は、キャ

ピラリーの断面半径である。液体の表面張力「 γ 」と、液体とキャピラリー壁との間の接触角「 θ 」とが公知であれば、停止ジャンクションの毛細管逆圧「 P_{cap} 」が計算され得る。

方程式 1

$$P_{cap} = \frac{2\gamma \cos \theta}{R}$$

P_{cap} = 毛細管圧力

γ = 血液の表面張力

θ = カートリッジに対する血液の接触角

R = 停止ジャンクションの半径

方程式 2 から 5 は、遠心圧力「 P_{cent} 」のための式を誘導する。方程式 2 は、液体の密度「 ρ 」、液体に適用される遠心加速「 a_{cent} 」、および液柱の半径方向高さ「 $r_1 - r_0$ 」に対して関連させた遠心圧力の一般的な式である。当該液体が受ける相対的な圧力において、該液体は実質的に非圧縮性であるから、方程式 2. 1 の誘導に際しては液体密度が一定であると仮定された。

方程式 2

$$P_{cent} = \int_{r_0}^{r_1} \rho a_{cent} dr$$

方程式 2. 1

$$P_{cent} = \rho \int_{r_0}^{r_1} a_{cent} dr$$

方程式 3 においては、遠心加速が画像化器具の円盤の角速度「 ω 」と、該円盤の中心から測定された液体セグメントの半径方向位置「 r 」とで表されている。方程式 4 および方程式 4. 1 に示すように、方程式 3 からの遠心加速のための式を方程式 2. 1 の中に置き換えてもよい。

方程式 3

$$a_{cent} = \omega^2 r$$

方程式 4

$$P_{cent} = 4\pi^2 \rho f^2 \int_{r_0}^{r_1} x dx$$

方程式4. 1

$$P_{cent} = 4\pi^2 \rho f^2 \left(\frac{r_1^2}{2} - \frac{r_0^2}{2} \right)$$

方程式5の誘導においては、方程式4が積分され（方程式4. 1参照）、また遠心圧力は液体密度、円盤角速度、キャピラリーまたは導管の入口または最も内側の部分の位置「 r_0 」、およびキャピラリー出口または停止ジャンクションの半径方向の位置「 r_1 」で表されている。方程式5. 1は方程式5の別のバージョンであり、ここでは半径の和および差の相対的な寄与を見ることができる。こうして、毛細管逆圧に打ち勝つための、遠心加速によって発生した圧力「 P_{cent} 」は、液体の柱の半径方向高さ（ $r_1 + r_0$ ）を変化させることによって、直接影響され得る。従って、寄与（ $r_1 - r_0$ ）／2として方程式5. 1に見られる該柱の平均半径方向位置、またはカートリッジに加えられる遠心加速（両者は粒子移動に対して逆に作用する）を単純に変化させることなく、毛細管逆圧に打ち勝つことができる。これは、今までの従来技術では教示されていない重要な原理である。

方程式5

$$P_{cent} = 2\pi^2 \rho f^2 (r_1^2 - r_0^2)$$

P_{cent} ＝遠心圧力

ρ ＝液体の密度

f ＝角速度

r_1 ＝出口の半径方向位置

r_0 ＝入口の半径方向位置

方程式5. 1

$$P_{cent} = 2\pi^2 \rho f^2 (r_1 + r_0)(r_1 - r_0)$$

方程式6は、停止ジャンクションを通る流れを生じさせるために、停止ジャンクションでの液体に作用する遠心圧力が毛細管逆圧を越えなければならないという条件を表している。方程式7および方程式7. 1では、遠心圧力および毛細管

逆圧として、方程式5および方程式1が方程式6の中に置換されている。方程式8は、停止ジャンクションを通る流れを生じるために必要な角速度について、方程式7を解いたものである。

方程式6

$$P_{cent} > P_{cap}$$

方程式7

$$2\pi^2\rho f^2(r_1^2 - r_0^2) > \frac{2\gamma\cos\theta}{R}$$

方程式7. 1

$$f^2 > \frac{\gamma\cos\theta}{\pi^2\rho R (r_1^2 - r_0^2)}$$

方程式8

$$f > \sqrt{\frac{\gamma\cos\theta}{\pi^2\rho R (r_1^2 - r_0^2)}}$$

f=停止ジャンクションを破壊するために必要な角速度

γ =血液の表面張力

θ =カートリッジに対する血液の接触角

ρ =血液の密度

R=停止ジャンクションの半径

r1=停止ジャンクションの半径方向位置

r0=サンプルまたは希釈剤の入口の半径方向位置

遠心加速が、最小限または許容可能な細胞移動を与えることを証明するためには、粒子の半径方向速度「 v 」を計算すればよい。方程式9および方程式10は、遠心加速にかけたときの粒子の半径方向速度を近似している。これらの方程式はストークスの法則の適用であり、「ベリーの化学工学ハンドブック」方程式19～54を参照されたい。表1の中の定数を参照すると、血漿の中の赤血球の最終速度(VZ)は、方程式10を用いて近似し得る。近似の一部として、6.4ミクロン(DP)の直径を有する球が粒子として用いられる。何故なら、このような球は

、半径が4.3マイクロオンで高さ2.4ミクロンの円筒として表された赤血球細胞と略同じ容積を有しているからである。このような値を方程式10に用いると、赤血球細胞の最終速度または移動速度は1.56ミクロン/秒となる。

方程式9

$$V_r = \frac{a_{cent}(\rho_p - \rho) D_p^2}{18\mu}$$

方程式10

$$V_z = \frac{4\pi^2 f^2 r (\rho_p - \rho) D_p^2}{18\mu}$$

V_r = 粒子速度の半径方向成分

a_{cent} = 遠心加速

ρ_p = 粒子の密度

ρ = 液相の密度

D_p = 球状粒子の直径

μ = 液相の粘度

f = 角速度

r = 粒子の半径方向位置

表1には、典型的な物理的パラメータ、機械的パラメータおよび寸法の計算が纏められている。この表の最初のボックスには、カートリッジおよび液体の固定された物理的特性、例えば血液の表面張力およびプラズマエッチされたABSに対する血液の接触角が掲載されている。第二のボックスには、混合室入口停止ジャンクション(SJ1)、希釈剤停止ジャンクション(SJ2)および混合室通気孔(SJ3)の半径方向位置および寸法を含む、本発明のカートリッジのための特別な設計寸法が掲載されている。第三のボックスには、三つの停止ジャンクションにおける角速度、遠心加速および遠心圧力が掲載されている。これらの値は、方程式8、方程式3および方程式5を用いて夫々計算されたものである。或いは、望ましい遠心加速および遠心圧力が既知であるとすれば、入口の半径方向位置(r_0)および出口の半径方向位置(r_1)は、方程式1~10、例えば方程式5、1に適切な値を置換することによって選択すればよい。低レベルの遠心加速

の好ましい範囲は $1 \sim 100 \text{ m/sec}^2$ 、好ましくは約 20 m/sec^2 である。同様に、半径方向高さ ($r_1 - r_0$) の好ましい範囲は $1 \sim 150$ ミリメートル、好ましくは約 25 ミリメートルである。

本発明の幾つかの特定の形態を例示し、説明してきたが、本発明の精神および範囲を逸脱することなく種々の変更を成し得ることは明らかである。例えば、製造するための材料および寸法についても、何れかの形に限定するものではなく、本発明の精神および範囲内に止まる限り、他の材料および寸法に置き換えてもよい。従って、添付の請求の範囲によって限定される場合を除き、本発明が制限されることはない。

表 1

固定された物理的特性

血液の表面張力 (N/m) γ	0.056
カートリッジに対する血液の接触角 (度) θ	35.0
血液の密度 (kg/m ³) ρ	1060.0
血漿の密度 (kg/m ³) ρ	1026.9
赤血球の密度 (kg/m ³) ρ_R	1096.4
赤血球の直径 (m) D_p	0.000064
血液の粘度 (kg/sec/m) μ	0.00015

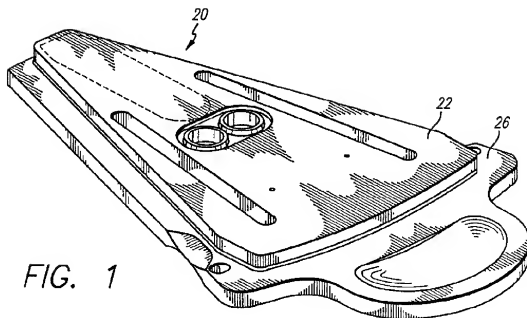
カートリッジおよび円盤の機械的パラメータ

サンプル入口の半径方向位置 (m) r_0	0.106		
希釈剤入口の半径方向位置 (m) r_d	0.0927		
停止ジャンクション番号	S J 1	S J 2	S J 3
停止ジャンクションの半径方向位置 (m) r_1	0.131	0.131	0.120
停止ジャンクションの半径 (m) R	1.09	1.09	0.787

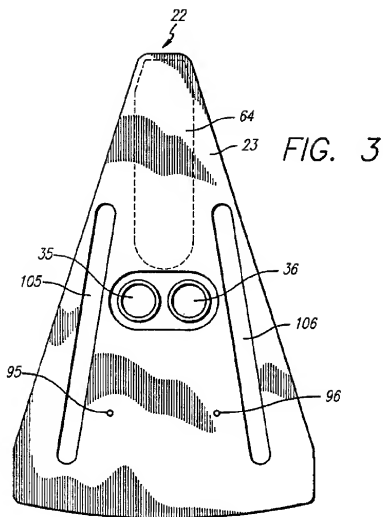
停止ジャンクションに打ち勝つために必要な計算された遠心加速

停止ジャンクション番号	S J 1	S J 2	S J 3
角速度 (RPM) f	69	58	114
遠心圧力 (mmH2O) Pcent	17	17	24
遠心加速 (m/sec ²) Scent	6.87	4.81	17.17

【図1】

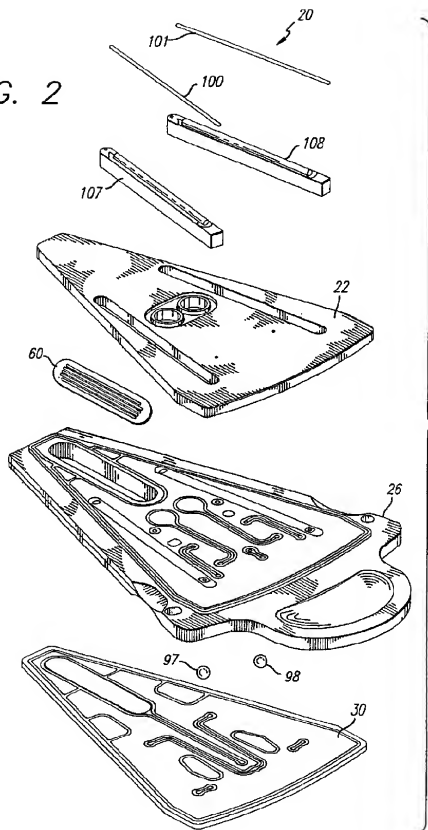


【図3】

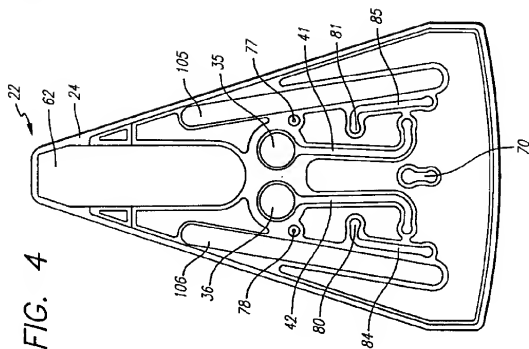


【図2】

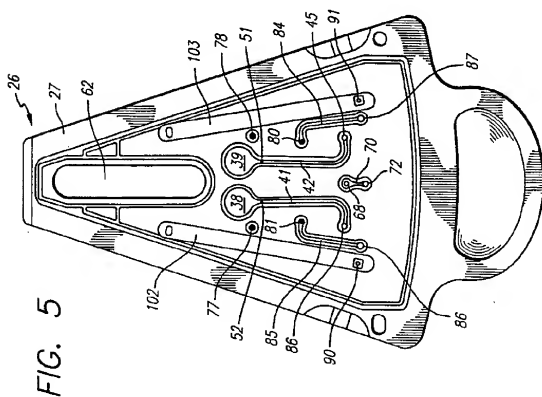
FIG. 2



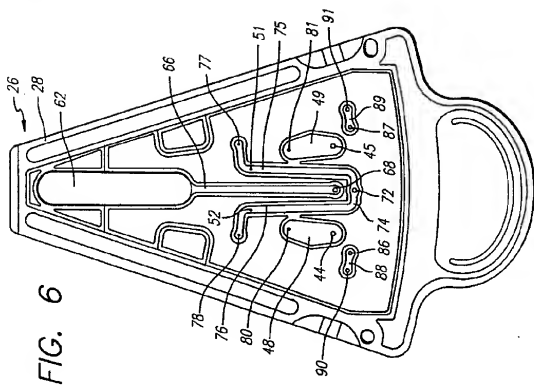
【図4】



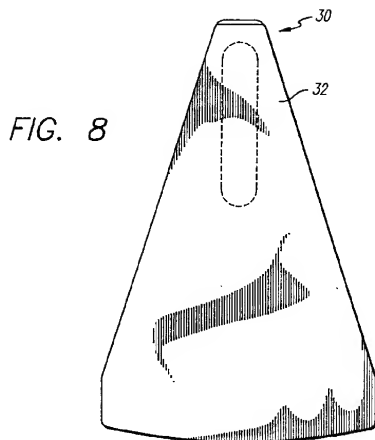
【図5】



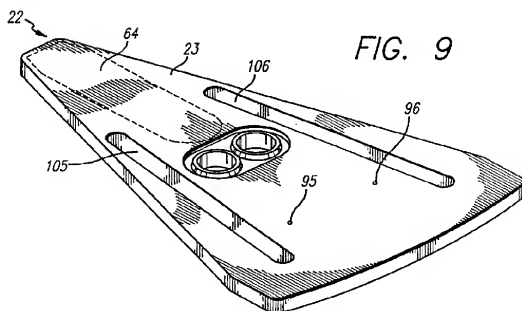
【図6】



【図8】

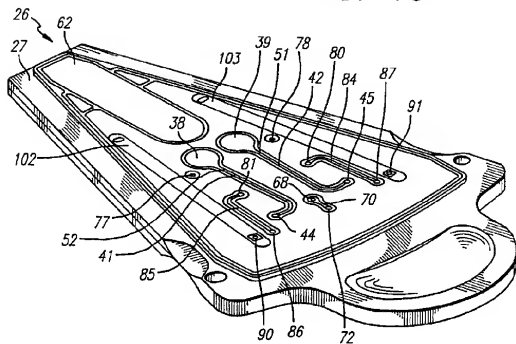


【図9】

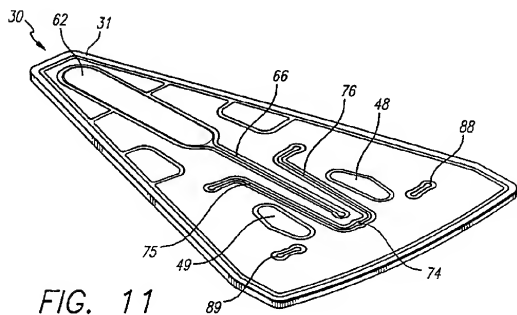


【図10】

FIG. 10

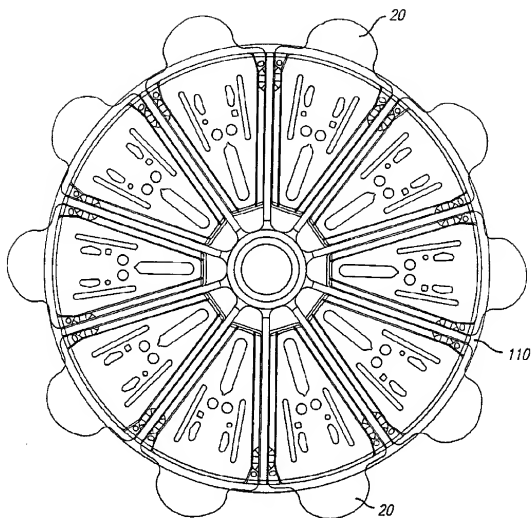


【図11】



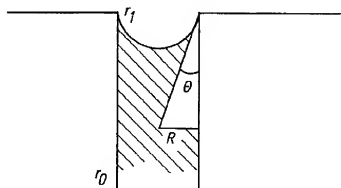
【図12】

FIG. 12



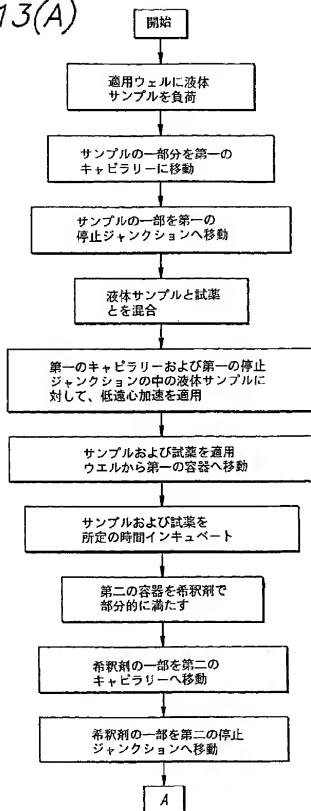
【図14】

FIG. 14



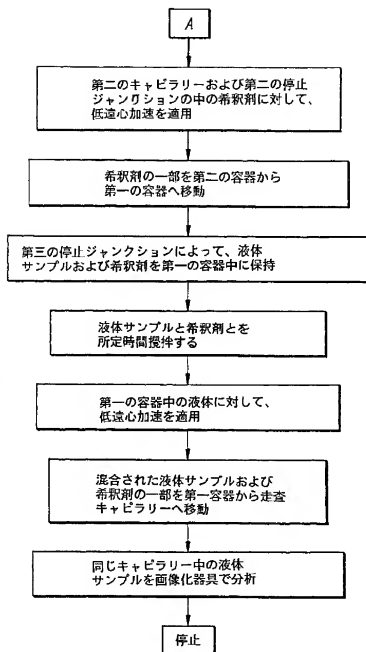
【図13】

FIG. 13(A)



【図13】

FIG. 13(B)



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US95/11073

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC (6) : G01N 35/10

US CL : 435/7.24

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : Please See Extra Sheet.

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US, A, 5,077,017 (GORIN ET AL) 31 December 1991, see entire document.	1-31
A	US, A, 3,799,742 (COLEMAN) 26 March 1974, see entire document.	1-31
A	US, A, 4,868,129 (GIBBONS ET AL) 19 September 1989, see entire document.	1-31
A	US, A, 4,946,795 (GIBBONS ET AL) 07 August 1990, see entire document.	1-31

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention.
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone.
"E" earlier document published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered together with one or more other such documents, such combination being regarded as a person skilled in the art.
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the prior art state of another criterion or other special reason (as specified)	"B"	document member of the same patent family.
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search

29 NOVEMBER 1995

Date of mailing of the international search report

02 JAN 1996

Name and mailing address of the ISA/US
 Commissioner of Patents and Trademarks
 Box PCT
 Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Christopher Chin

Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)*

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US95/11073

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched

Classification System: U.S.

422/55,58,63;

435/7,24,287,291;

436/43,45,46,47,514,107,109

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, MW, SD, SZ, UG), AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UG, UZ, VN

【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成15年1月21日(2003. 1. 21)

【公表番号】特表平10-505672

【公表日】平成10年6月2日(1998. 6. 2)

【年進号数】

【出願番号】特願平8-509581

【国際特許分類第7版】

G01N 35/00

【F I】

G01N 35/00 D

手続補正書

平成14年 8月19日

特許庁長官宛

1. 事件の表示

平成10年特許第509581号

2. 補正をすべき書

名称 バイオメトリック イメージング インコーポレーテッド

3. 代理人

住所 〒530-0044
大阪府大阪市北区東船場2丁目1番20号
三井住友銀行北船場ビル
特許部寄附所
電話06-6362-2021(代)
FAX 06-6362-1731

氏名 井根 久雄 (6474) 代理人 久雄



4. 補正命令の日付

自他(出願審査係長と異なり)

5. 補正対象品名

請求の範囲

6. 補正対象項番号

請求の範囲

7. 補正の内容

請求の範囲を別紙のとおり補正する。

以上

請求の範囲

1. 低速伝動で液体を流れさせる流体力学的装置であって、

液体を供給するための半流体方向手段を含み、前記半流体方向手段は、入口と、該入口から外側の半流体方向位置を有する出口とを有し、前記半流体方向手段は、前記半流体方向手段の出口を通じて液体が流れ出るのを防止するよう構成される液体密封装置をさらに有し、前記装置はさらに、

前記半流体方向手段の出口と液体を流す停止ジャンクションを設けるための液体手段を含み、前記半流体方向手段の入口および出口の半流体方向位置は、前記半流体方向手段に $1-1.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ の範囲の低レベルの速度加減が適用されたときに、該出口を通過して液体が流れ出るよう選択される、流体力学的装置、

2. 低速伝動で液体を流れさせる流体力学的装置であって、

液体を供給するための半流体方向手段を含み、前記半流体方向手段は、入口と、該入口から外側の半流体方向位置を有する出口とを有し、前記半流体方向手段は、前記半流体方向手段の出口と液体を流す停止ジャンクションを設けるための液体手段をさらに有し、前記装置はさらに、

前記半流体方向手段の出口と液体を流す入口を有する液体停止キャビラリーを含み、前記液体停止キャビラリーは、出口と、前記液体停止キャビラリーの出口とを通過して液体が流れ出るのを防止するよう構成される液体密封装置とをさらに有し、前記装置はさらに、

前記液体停止キャビラリーの出口と液体を流す停止ジャンクションを設けるための液体手段を含み、前記半流体方向手段の入口および出口の半流体方向位置は、前記半流体方向手段および前記液体停止キャビラリーに $1-1.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ の範囲の低レベルの速度加減が適用されたときに、前記液体停止キャビラリーを通過して液体が流れ出るよう選択される、流体力学的装置、

3. 前記半流体方向手段および前記液体停止キャビラリーに適用される液体レベルの速度加減は $2.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ 未満である、請求項2に記載の流体力学的装置、

4. 前記半流体方向手段の出口の液体方向位置は、前記半流体方向手段の入口から少なくとも1ミリメートルである、請求項2に記載の流体力学的装置、

5. 前記半流体方向手段の出口の液体方向位置は、前記半流体方向手段の入口から

から150ミリメートル未満である、請求項4に記載の流体力学的装置、

6. 前記半流体方向手段の出口の液体方向位置は、前記半流体方向手段の入口から25ミリメートルである、前記装置に搭載の流体力学的装置、

7. 液体を流す停止ジャンクションを含む液体が、前記半流体方向手段の入口と該出口との間に供給され、前記液体停止キャビラリーの液体供給は、該液体が該出口の速度加減を受けるときに、該液体停止キャビラリーが液体供給される速度の100倍より大きい速度で液体を供給しないような前記装置を有する液体装置とをさらに有し、前記装置はさらに、

8. 低速伝動で液体を流れさせる流体力学的装置であって、

入口と、該入口から外側の半流体方向位置を有する出口とを有する第1のキャビラリーを含み、前記第1のキャビラリーは、前記第1のキャビラリーの出口を通過して液体が流れ出るよう構成される液体密封装置を有し、前記装置はさらに、

前記第1のキャビラリーの出口と液体を流す入口を有する、第2のキャビラリーを含み、前記第2のキャビラリーは、出口と、前記第2のキャビラリーの出口とを通過して液体が流れ出るのを防止するよう構成される液体密封装置とをさらに有し、前記装置はさらに、

前記第2のキャビラリーの出口と液体を流す停止ジャンクションを設ける液体手段、前記第1のキャビラリーの入口および出口の半流体方向位置は、前記第1のキャビラリーおよび前記第2のキャビラリーに $1-1.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ の範囲の低レベルの速度加減が適用されたときに、前記第2のキャビラリーを通過して液体が流れ出るよう選択される、流体力学的装置、

9. 本発明、

液体サンプルを収容するように、前記本体内に形成される第1の容腔と、

前記第1の容腔と液体を流す第1の本体内に形成される、前記本体内に形成される第1のキャビラリーと、

前記本体内に形成され、前記第1のキャビラリーの第2の本体内に液体を流す第1の停止ジャンクションを含み、前記第1の停止ジャンクションは、前記第1のキャビラリーからの液体の流れを防止する液体密封装置を有する第2のキャビ

ラリーを有し、さらに、

前記本体内に形成され、前記第1の停止ジャンクションと液体を流す第2の容腔を含み、該液体サンプルは、前記本体内に $1-1.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ の範囲の第1の低速伝動速度を適用すると、前記第1の容腔から、前記第1のキャビラリーを通過し、前記第1の停止ジャンクションを通過して前記第2の容腔へと流れ、該液体サンプルは、

10. 前記装置を有するガラス製アンブレラを保持するよう、前記本体内に形成される第2の容腔と、

前記本体内に形成され、前記第2の容腔と液体を流す第1の本体内に形成される第2のキャビラリーと、

前記本体内に形成され、前記第2のキャビラリーの第2の本体内に前記第2の容腔と液体を流す第2の停止ジャンクションとをさらに含み、前記本体内に $1-1.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ の範囲の第2の低速伝動速度を適用すると、前記ガラス製アンブレラが前記第2の容腔から前記第2の容腔へと流れ、前記装置はさらに、

11. 前記本体内で少なくとも部分的に形成される流量キャビラリーと、

前記本体内に形成され、前記第2の容腔および前記流量キャビラリーと液体を流す第3の停止ジャンクションとをさらに含み、前記第2の停止ジャンクションは、前記本体内に前記第2の低速伝動速度を適用したときに、該液体サンプルおよび該液体サンプルの流量から導出するよう構成され、該液体サンプルおよび該液体サンプルの流量は、前記本体内に、前記第2の低速伝動速度より速く、 $1-1.00\text{ cm/sec}/\text{sec}$ の範囲の第3の低速伝動速度を適用すると、前記第3の容腔から前記流量キャビラリーへと流れ、前記装置はさらに、

12. 前記本体内に第1のプレート、第2のプレート、および第3のプレートを有し、前記第1のプレートは前記第1のプレートおよび前記第2のプレート内に形成され、前記第2の容腔は前記第2のプレートおよび前記第3のプレート内に形成され、前記第3の容腔は前記第3のプレート、前記第2のプレート、および前記第3のプレート内に形成される、請求項1に記載の液体装置、

13. 前記流量キャビラリーは前記装置の内部を流すよう、請求項1に記載の液体装置、

ートリッジ、

14. 前記第1の容腔は、蛍光色素に結合した少なくとも1つの液体を含み、

請求項2に記載の液体装置、

15. 前記本体内、前記装置に形成される液体装置は、請求項2に記載の液体装置、

16. 前記第1の容腔は、液体の量のサンプルを収容するよう構成される、請求項2に記載の液体装置、